

PRODUCTION OF D-XYLULOSE 5-PHOSPHATE

Publication number: JP6279483 (A)

Publication date: 1994-10-04

Inventor(s): SASAKI MASAOKI -

Applicant(s): KIKKOMAN CORP -

Classification:

- International: C07H1/08; C07H11/04; C12P19/02; C07H1/00; C07H11/00; C12P19/00; (IPC1-7); C07H1/08; C07H11/04; C12P19/02

- European:

Application number: JP19930093847 19930330

Priority number(s): JP19930093847 19930330

Abstract of JP 6279483 (A)

PURPOSE: To extremely simply and economically obtain the subject compound which is a raw material for hydroxy-ethyl-methyl-5(2H)luranone useful as a reagent, etc., for research for the metabolic pathway from a hydrolytic solution of a protein-containing raw material by hydrolyzing the raw material.
CONSTITUTION: A protein-containing raw material such as soybean or wheat gluten is initially enzymically or chemically hydrolyzed. The objective compound is then separated from the resultant hydrolytic solution by a method for using the high-performance liquid chromatography, an ion exchange resin, etc. Furthermore, e.g. a proteolytic enzyme such as a protease or a plant cell wall-digesting enzyme such as a cellulase can be used as an enzyme used in enzymically hydrolyzing the raw material. In order to chemically hydrolyze the protein-containing raw material, an acid solution such as a 0.1-10% hydrochloric acid solution is added to the protein-containing raw material and the resultant mixture is then heated to >=70 deg.C and subsequently neutralized with an alkali such as sodium carbonate.

Data supplied from the espacenet database — Worldwide

特開平6-279483

(43)公開日 平成 6 年(1994)10月 4 日

(51)Int.Cl.⁵

識別記号

庁内整理番号

F I

技術表示箇所

C 0 7 H 11/04

1/08

C 1 2 P 19/02

7432-4B

審査請求 未請求 請求項の数 1 F D (全 4 頁)

(21)出願番号

特開平5-93847

(22)出願日

平成 5 年(1993) 3 月30日

(71)出願人

000004477

キッコーマン株式会社

千葉県野田市野田339番地

(72)発明者

佐々木 正興

千葉県野田市野田339番地 キッコーマン株式会社内

(54)【発明の名称】 D-キシルロース 5-リン酸の製法

(57)【要約】

【目的】生化学分野における代謝経路の研究用試薬として、また風味改良剤としての利用が期待される4-ヒドロキシ-2 (又は5) エチル-5 (又は2) メチル-3 (2 H) フラノンの原料として、有用なD-キシルロース 5-リン酸を、簡単な方法により経済的に得る。

【構成】蛋白質含有原料を酵素的あるいは化学的に加水分解し、得られた分解液よりD-キシルロース 5-リン酸を分離する。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 蛋白質含有原料を酵素的あるいは化学的に加水分解し、得られた分解液よりD-キシルロース 5-リン酸を分離することを特徴とするD-キシルロース 5-リン酸の製造法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、生化学分野における代謝経路の研究用試薬として、また風味改良剤としての利用が期待される4-ヒドロキシ-2（又は5）エチル-5（又は2）メチル-3（2H）フランソ（以下、HEMFということがある）の原料として、有用なD-キシルロース 5-リン酸又はその塩（本発明では、これらをD-キシルロース 5-リン酸という）の製造法に関する。

【0002】

【従来の技術】従来、D-キシルロース 5-リン酸の製造法は殆ど知られておらず、また該化合物は非常に高価である。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】従って、本発明の目的は、新しい製造法により、しかも経済的にD-キシルロース 5-リン酸を得ることにある。

【0004】

【課題を解決するための手段】本発明者等は、上記目的を達成するため鋭意研究を重ねた結果、安価で安定供給が可能な蛋白質含有原料を酵素的あるいは化学的に加水分解し得られた分解液に、D-キシルロース 5-リン酸が多量に含有されていることを知り、この知見に基づいて本発明を完成した。即ち、本発明は蛋白質含有原料を酵素的あるいは化学的に加水分解し、得られた分解液からD-キシルロース 5-リン酸を分離することを特徴とするD-キシルロース 5-リン酸の製造法である。

【0005】以下本発明を詳細に説明する。まず、本発明に用いられる蛋白質含有原料としては、大豆、脱脂大豆、大豆分離蛋白質、小麦、小麦グルテン、コーングルテン等、蛋白質を多く含有する原料が挙げられる。

【0006】これらの蛋白質含有原料を酵素的に加水分解する際、使用する酵素としては、蛋白質分解酵素；澱粉質分解酵素；セルラーゼ、ヘミセルラーゼ、ポリガラクトナーゼ等の植物細胞壁崩壊酵素；それらの含有物；醤油麹、米麹、ふすま麹などの麹及び納豆、テンペなどの発酵食品等が挙げられる。これらは、併用してもよい。

【0007】酵素による加水分解は、蛋白質含有原料をそのまま、あるいはその加熱変性物に上記酵素等を混和し、加水した後酵素等の作用温度範囲で、分解を行う。分解は部分分解でもよいが、完全分解例えば分解物が泥状になる迄行うことが好ましい。

【0008】次に、蛋白質含有原料を化学的に加水分解する方法としては、蛋白質含有原料に苛法により0.1～10%程度の塩酸溶液等の酸溶液を加え、約70℃以上で加熱分解した後、炭酸ナトリウム等のアルカリを加え中和する方法により行う。

【0009】次に、蛋白質含有原料を酵素的あるいは化学的に加水分解し、得られた加水分解液より、D-キシルロース 5-リン酸を分離する手段としては、HPLCによる方法、あるいはイオン交換樹脂による方法等任意の方法が挙げられる。これらは単独で、あるいは組合せて使用してもよい。

【0010】このようにして、本発明によれば、生化学分野における代謝経路の研究用試薬として、また風味改良剤としての利用が期待されるHEMFの原料として有用なD-キシルロース 5-リン酸を、極めて簡単な方法により経済的に製造することができる。

【0011】以下D-キシルロース 5-リン酸の製造例及びそれを用いたHEMF製造例（応用例）を示して本発明をより具体的に説明する。

【0012】

【実施例1】

（大豆分離蛋白質の酵素分解液からD-キシルロース 5-リン酸の製造例）

【0013】（1）酵素分解処理液の調製

蒸留水135mlに酸性プロテアーゼ「盛進製薬社製、モルシン」0.5重量%、中性プロテアーゼ「大和化成社製、サモアーゼ」、0.5重量%、セルラーゼ「明治製菓社製、メイセラゼ」0.5重量%を添加溶解後、0.22μmのフィルターで除菌し、これに滅菌した大豆分離蛋白質粉末30gを添加溶解し、37℃、24時間保持し、酵素分解液を調製した。この分解液を遠心分離（3,000rpm、10分）し、上澄液94mlを得た。

【0014】

（2）分解液よりD-キシルロース 5-リン酸の分離
上記分解処理液の上澄液を10μlづつ採取し、下記高速液体クロマトグラフィー（HPLC法）の条件にて処理し、保持時間約17～19分の溶離液を分取し（約2ml）、これを合計10回繰り返して、得られた分取液約20mlをロータリーエバポレータにて減圧濃縮し、D-キシルロース 5-リン酸の濃縮物約100μlを得た。

【0015】（3）高速液体クロマトグラフィー条件
カラム：順相型カラム（東ソー社製、TSK gel Amide 80）、
内径：4.6mm×250mm
モニター：UV検出器（210nm）
流速：1ml/min
移動相A：アセトニトリル（90%）—5mMリン酸（10%）

移動相 B: アセトニトリル (20%) - 5 mM リン酸
(80%)

グラジエント条件: 下記表 1 による
【0016】

表 1 (グラジエント条件)

	A (%)	B (%)
0 分	100	0
120 分	0	100
130 分	100	0

【0017】

(3) D-キシロコース 5-リン酸の確認試験
上記濃縮液の一部をとり、これを質量分析計の SIMS
モードで分析し、得られたスペクトルを、標準の D-キシ
ロコース 5-リン酸のそれと比較したところ、完全
に一致した。そのことより、本実施例 1 で得られた化合
物は、D-キシロコース 5-リン酸であると確認し
た。

【0018】以上の結果から本発明によれば、安価な大
豆分離蛋白より容易に D-キシロコース 5-リン酸が
得られることが判る。

【0019】

【実施例 2】

(醤油調味液汁、即ち蛋白質含有原料の酵素分解液か
ら、D-キシロコース 5-リン酸の製造例)

【0020】(1) 仕込み初期における酵母発酵前の醬
油調味液汁の調製

通常の醤油の製造法にしたがって、脱脂大豆に加水した
後加熱煮性したものに、炒熟割砕した小麦を混和し、種
麹を接種培養して、醤油麹を得、これを食塩水に仕込ん
で、調味とし、これを約 1 カ月管理して得られた、アル
コール発酵前の調味液を濾過して調味液汁を得た。

【0022】(3) 調味液汁より D-キシロコース 5
-リン酸の分離

上記調味液汁を 1.0 ml づつ採取し、上記実施例 1 と同
じ高速液体クロマトグラフィー (HPLC 法) の条件に
て処理し、保持時間約 17 ~ 19 分の溶離液を分取
(約 2 ml)、これを合計 3 回繰り返して、得られた分取
液約 6 ml をロータリーエバポレータにて減圧濃縮し、
D-キシロコース 5-リン酸の濃縮液約 30 μl を得
た。

【0023】

(3) D-キシロコース 5-リン酸の確認試験

上記濃縮液の一部をとり、これを質量分析計の SIMS
モードで分析し、得られたスペクトルを、標準の D-キシ
ロコース 5-リン酸のそれと比較したところ、完全
に一致した。

【0024】上記結果から、本発明によれば安価で安定

供給が可能な大豆及び小麦を原料として調製した麹の加
水分解液より、D-キシロコース 5-リン酸を容易
に、しかも経済的に製造することができることが判る。

【0025】

【応用例 1】

(HEMF の製造例)

【0026】(1) HEMF 製造のための酵母用栄養培
地 (醤油燻消化液培地) の調製

醤油麹 100 g を布袋に取り、蒸留水 1000 ml に加
え 58℃ で 7.5 時間保持し、次に 5℃ で 1 夜寝を吊り
下げ、消化液 950 ml (pH 6.54) を得た。次に
これを 2 ~ 3 分煮沸後濾紙で濾過し濾液 885 ml を得
た。これにグルコースを 5 重量% となるように加えて、
栄養培地とした (但し、醤油酵母用の場合は食塩含量を
1.7% に調整した)。

【0027】

(2) D-キシロコース 5-リン酸の調製

実施例 1 により得られた、D-キシロコース 5-リン
酸をそのまま使用した。

【0028】(3) 酵母の培養 (HEMF 発酵)

上記 D-キシロコース 5-リン酸を表 2 に記載の添加
量になるように、上記 (1) で調製した栄養培地 (醤油
燻消化液培地) 1.2 ml 中に投入し、酵母接種用の栄
養培地を調製した。 (但し、醤油酵母用の場合には食塩
含有量を 1.7% に調整した)。次に、この調製した培地
を 5 ml 容量ネジロキャップ付きバイアルビンにとり、こ
れに、表 2 に記載の酵母をスラントから 1 白金耳接種
し、時々攪拌しながら、30℃ で 1 週間静置培養したと
ころ、表 2 に記載の如き、HEMF を著量含有する培養
液を得た。

【0029】次いで、上記培養液中の HEMF をガスク
ロマトグラフィーにて分析定量した (Journal of Agric
ultural and Food Chemistry Vol. 39, 934 (1991) 参
照)。

【0030】比較のため上記 HEMF の製造法におい
て、D-キシロコース 5-リン酸を添加しない以外は
全く同様にして、培養液を得、HEMF 分析定量した。
その結果を表 2 に示す。

項目 区分	酵母の種類	D-キシロース 5- リン酸の添加量(mg)	HEMF (ppm)
本発明	醬油酵母(註1)	24	35.7
本発明	清酒酵母(註2)	24	26.3
本発明	ワイン酵母(註3)	24	21.2
本発明	焼酎酵母(註4)	24	14.6
比較例	醬油酵母(註1)	無添加	2.8

註1: *Zygosaccharomyces rouxii* ATCC 13356

註2: *Saccharomyces cerevisiae* IFO 2342

註3: *Saccharomyces cerevisiae* IFO 2245

註4: *Saccharomyces cerevisiae* IFO 0216

【0032】表2の結果から、本発明で得られたD-キシロース 5-リン酸は、HEMFの原料として有効に用いることができることが判る。